

DOI:10.11931/guihaia.gxzw201803045

基于 SSR 标记探讨三种金花茶植物的遗传多样性和遗传结构

陈海玲^{1,2}, 路雪林^{1,2}, 叶泉清^{1,2}, 唐绍清^{1,2*}

(1. 珍稀濒危动植物生态与环境保护教育部重点实验室, 广西师范大学, 桂林 541006; 2. 广西珍稀濒危动物生态学重点实验室, 生命科学学院, 广西师范大学, 桂林 541006)

摘要: 物种遗传多样性与其适应能力和进化潜力密切相关, 了解珍稀濒危植物遗传多样性和遗传结构可以为其保护策略与管理方式的制定提供理论基础。薄叶金花茶、小花金花茶和小瓣金花茶是三种濒危金花茶植物, 本研究利用微卫星标记对它们的 7 个种群共 184 个个体进行遗传多样性和遗传结构分析。11 个位点共检测到等位基因 92 个。在物种水平上, 小瓣金花茶平均等位基因数 (N_A) 为 3.9、有效等位基因数 (N_E) 为 2.328、观测杂合度 (H_o) 为 0.520、期望杂合度 (H_e) 为 0.501, 高于薄叶金花茶和小花金花茶。在种群水平上, 有效等位基因数 (N_E) 在 1.788~2.466 之间, 期望杂合度 (H_e) 在 0.379~0.543 之间; 种群间遗传分化系数 (F_{ST}) 在 0.143 7~0.453 3 之间, 种群间基因流 (Nm) 在 0.301 5~1.488 9 之间。AMOVA 分子变异分析显示 65.72% 的变异存在于种群内。三种金花茶具有较低水平的遗传多样性和高水平的种群间遗传分化。STRUCTURE 和 PCoA 种群遗传结构分析结果将取样种群分为 2 组, 即薄叶金花茶和小花金花茶大部分个体分为一组, 小瓣金花茶大部分个体分为一组。现存所有种群应根据实际情况尽快采取就地保护或迁地保护措施。

关键词: 薄叶金花茶, 小花金花茶, 小瓣金花茶, 遗传多样性, 遗传结构

Genetic diversity and structure of three yellow *Camellia* species based on SSR markers

CHEN Hailing^{1,2}, LU Xuelin^{1,2}, YE Quanqing^{1,2}, TANG Shaoqing^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection, Ministry of Education, Guangxi Normal University, Guilin, 541006, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Rare and Endangered Animal Ecology, College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin, 541006, China)

Abstract: Genetic diversity of species are closely associated with their adaptability and potentiality in evolution. Information on genetic diversity and genetic structure of endangered species can provide strategies for conservation. In this study, SSR marker was used to evaluate genetic diversity and population structure of three endangered *Camellia* species: *C. chrysanthoides*, *C. micrantha* and *C. parvipetala*. The mean number of alleles (3.9), the effective

基金项目: 国家自然科学基金 (31260053); 珍稀濒危动植物生态与环境保护教育部重点实验室研究基金 (ERESEP2015Z01); 广西研究生教育创新计划 (XYCSZ2017069) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31260053); Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection, Ministry of Education, China (ERESEP2015Z01); Innovation Project of Guangxi Graduate Education (XYCSZ2017069)].

作者简介: 陈海玲 (1991-), 女 (壮族), 广西横县人, 硕士研究生, 主要从事植物种群遗传学研究, (E-mail) chl201203@163.com。

***通信作者:** 唐绍清, 博士, 教授, 主要从事植物种群遗传学, 谱系地理学研究, (E-mail) shaoqing@mailbox.gxnu.edu.cn

number of alleles (2.328), observed heterozygosity (0.520) and expected heterozygosity (0.501) of *C. parvipetala* were higher than *C. chrysanthoides* and *C. micrantha*. In the population level, the effective number of alleles ranged from 1.788 to 2.466 and the expected heterozygosity ranged from 0.379 to 0.543. The F_{ST} values between each pair of populations were ranged from 0.143 7 to 0.453 3, the Nm values ranged from 0.301 5 to 1.488 9. AMOVA suggested that the variation was 65.72% within populations. Low level of genetic diversity and high levels of genetic differentiation were detected for these three *Camellia* species. The STRUCTURE and PCoA analysis showed that 7 populations were clustered into two groups. One group comprised 5 populations from *C. chrysanthoides* and *C. micrantha*, and the other consisted of 2 populations from *C. parvipetala*. In situ and ex situ actions should be urgently implemented as soon as possible.

Key Words: *Camellia chrysanthoides*, *Camellia micrantha*, *Camellia parvipetala*, genetic diversity, genetic structure

1 前言

薄叶金花茶 (*Camellia chrysanthoides* H. T. Chang) (2n=30)、小花金花茶 (*Camellia micrantha* S. Y. Liang et Y. C. Zhong) (2n=30) 和小瓣金花茶 (*Camellia parvipetala* J. Y. Liang et Su) (2n=30) 是分布于我国广西西南部的三种金花茶植物(张宏达和任善湘, 1998; 梁盛业, 1995)。薄叶金花茶分布于广西龙州县大青山, 小花金花茶分布于广西凭祥市夏石镇, 小瓣金花茶分布于广西南宁明县, 它们的分布区接近且极其狭窄。土地的开发和利用导致它们的生境被破坏; 另外, 因它们具有一定的观赏价值, 部分野生植株被当地居民移植。因此, 这3个物种的野生种群大小快速降低, 并呈片断化分布。薄叶金花茶和小花金花茶已被《中国高等植物受威胁物种名录》列为濒危物种(覃海宁等, 2017)。

遗传多样性代表着物种适应能力的进化潜力, 使其适应环境的改变(Frankham et al, 2002)。对珍稀濒危植物遗传多样性和遗传结构的研究不仅能了解导致物种濒危的机制, 还可以为其保护策略与管理方式的制定提供理论基础(Segarra-Moragues et al, 2005; Su et al, 2017)。利用分子标记的方法估算遗传变异和遗传结构已成为保护濒危物种的常用方法(Ryall, 1998)。微卫星(Microsatellites)标记也叫简单重复序列(simple sequence repeats, SSRs), 具有高多态性、共显性、稳定性和重复性好、在真核生物中广泛存在等优点, 是研究物种种群遗传学的一种有效工具(Li et al, 2013; György et al, 2014; Meng et al, 2015)。微卫星标记广泛应用于揭示濒危植物种群遗传多样性和遗传结构(Yang et al, 2016; Ma et al, 2015; Zhao et al, 2017; He et al, 2017)。

遗传多样性分析是评价和保护濒危植物的重要指标, 它能为濒危植物制定有效的保护措施提供重要依据(Cires et al, 2011)。关于薄叶金花茶、小花金花茶和小瓣金花茶遗传多样性和遗传结构的研究未见报道。因此, 本研究利用微卫星标记评估三种金花茶7个种群遗传多样性和遗传结构, 旨在了解它们的遗传多样性和遗传结构, 依据研究结果提出保护策略。

2 材料和方法

2.1 材料

薄叶金花茶和小花金花茶在分类上没有分歧(张宏达和任善湘, 1998; Ming & Bartholomew, 2007), Ming & Bartholomew (2007)将小瓣金花茶归并到柠檬金花茶 (*Camellia indochinensis* Merrill), 但是小瓣金花茶和柠檬金花茶在形态上存在一定的差异, 因此, 本研究仍按照张宏达和任善湘(1998)把小瓣金花茶作为独立的种进行采样。我们在整个分布区内共找到7个种群, 3个小花金花茶种群和2个小瓣金花茶种群的分布及形态特征与原描述

相符。种群 BH1 和 BH2 观察到的花的直径最大只有 3cm，与《中国植物志》(张宏达和任善湘, 1998)描述了薄叶金花茶花的直径有 4~5.5cm 不相符。但薄叶金花茶模式标本无花有果，新种发表时没有花的描述(张宏达, 1979)，花直径 4~5.5cm 是根据其他标本的花进行描述(叶泉清和薛跃规, 2013)；BH2 种群是南宁金花茶公园基因库的薄叶金花茶的引种地，种群 BH1 的分布地是薄叶金花茶模式标本的采集地龙州大青山，因此我们仍认定这两个种群为薄叶金花茶。每株植物选取 2-3 片新鲜的嫩叶放入有变色硅胶的封口袋中干燥后，用于总 DNA 的提取。材料来源、凭证标本信息等详见表 1，种群分布地见图 1。凭证标本存放于广西植物研究所标本馆（IBK）。

表1 三种金花茶7个种群采集信息

Table 1 Sampling information for 7 populations

物种(凭证标本号) Species (Voucher number)	种群 Popul ation	采集地点 Location	经度 Longitude (E)/纬度 Latitude (N)	海拔 Altitude (m)	种群 大小 Popul ation size	采集株数 Sampling
薄叶金花茶 <i>C. chrysanthoides</i> (2017042201)	BH1	龙州县彬桥乡安镇村 Anzhen, Binqiao, Longzhou	106°44'/ 22°15'	305	<100	34
	BH2	龙州县上降乡梓丛村 Zicong, Shangjiang, Longzhou	106°47'/ 22°10'	251	<50	32
小花金花茶 <i>C. micrantha</i> (2014011601)	NB1	凭祥市夏石镇丰乐村 Fengle, Xiashi, Pingxiang	106°51'/ 22°09'	337	8	8
	NB2	凭祥市夏石镇丰乐村 Fengle, Xiashi, Pingxiang	106°52'/ 22°09'	370	12	12
	NB3	凭祥市夏石镇夏石村 Xiashi, Xiashi, Pingxiang	106°51'/ 22°07'	355	<100	35
小瓣金花茶 <i>C. parvipetala</i> (2014011801、 2014011802)	PT1	宁明县峙浪乡派台村 Paitai, Zhilang, Ningming	107°08'/ 21°50'	208	<50	34
	PT2	宁明县桐棉镇那么村 Name, Tongmian, Ningming	107°13'/ 21°49'	492	<50	29
总计						184

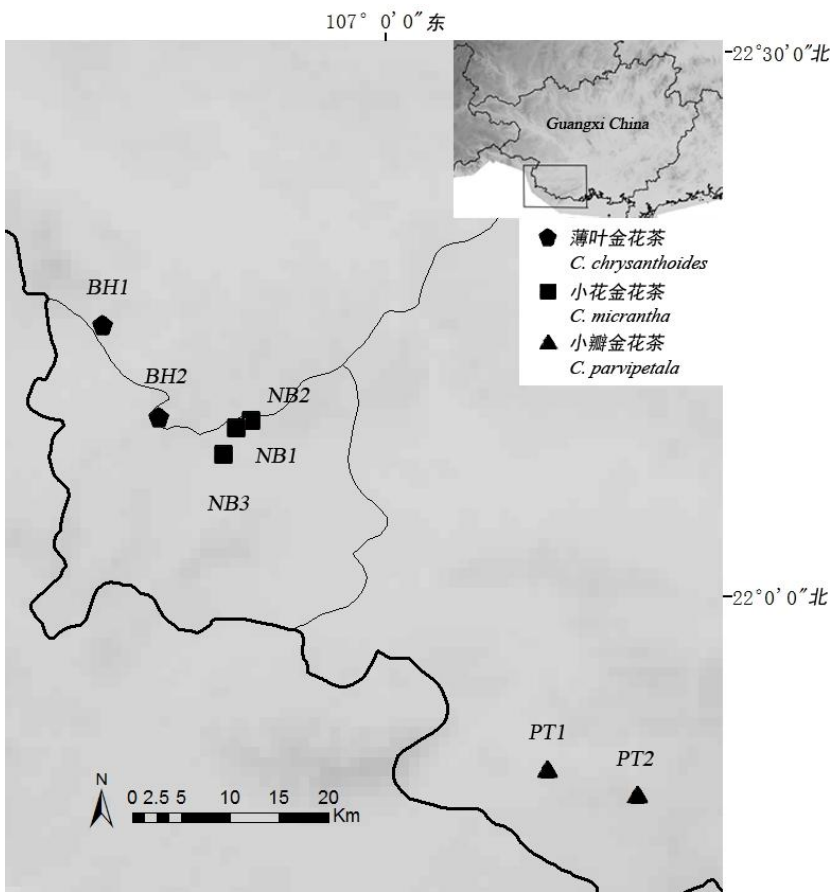


图 1 三种金花茶 7 个种群采样地理分布图

Fig.1 Map of the sampling location of 7 populations

2.2 DNA 提取和 SSR 分型

采用改良的CTAB法(Doyle, 1987)提取叶片总DNA。从Lu et al (2014)和Liufu et al (2014)为平果金花茶和淡黄金花茶开发的共 59 对微卫星引物中筛选出 11 对扩增条带清晰, 多态性高的微卫星引物用于本研究。PCR 扩增体系和程序参考 Liufu et al (2014)描述的方案。

2.3 数据分析

微卫星分型数据利用 Genepop version 4.1(Rousset, 2008)检测哈迪-温伯格平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium, HWE), 并对所得 P 值进行 sequential Bonferroni 校正(Rice, 1989)。GenALEx 6.5 (Peakall & Smouse, 2012)软件用于统计平均等位基因数 (N_A)、有效等位基因数 (N_E)、观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e)、固定系数 (F) 和多态性位点百分数 (PPB) 等多样性指数。分子变异方差分析 AMOVA (Analysis of molecular variance) (Excoffier et al, 1992)利用 Arlequin 3.0(Excoffier et al, 2005)软件计算, 并用该软件统计种间和种群间分化系数 F_{ST} 。基因流 (Nm) 估算利用公式 $Nm = (1 - F_{ST}) / 4 F_{ST}$ 。

遗传差异的主成分分析 (PCoA) 利用 GenALEx 6.5 软件计算。STRUCTURE 2.3 (Pritchard et al, 2000)对 7 个种群进行分析, 根据遗传成分的差异来分析种群遗传结构。参数设置为: $K=1-6$, 每个 K 值分别运行 20 次, Burn-in 10^5 次, Markov Chain Monte Carlo (MCMC) 5×10^5 迭代。运行结果利用在线软件 STRUCTURE HARVESTER (Earl & Vonholdt, 2012)分析, 计算出最佳遗传学组数 K 。利用 GenALEx 6.5 中的 Mantel test 检测 7 个种群的遗传距离是否与地理距离 (isolation by distance, IBD) 存在相关性。

3 结果

3.1 种群遗传多样性

11 个位点在三种金花茶 184 个个体共检测到等位基因 92 个, 平均每个位点 8.364 个(表 2)。7 个种群 11 个位点共 77 次 Hardy-Weinberg 平衡检验, 检测结果共有 9 次偏离平衡 ($P < 0.05$), 经 sequential Bonferroni 校正后, 只有位点 TER8 在种群 NB3 偏离平衡。所有数据可用于后续分析。

表 2 11 个位点遗传多样性信息
Table 2 Population genetic parameters of 11 microsatellite markers

位点 Loci	总的等位 基因数 N_T	平均等位 基因数 N_A	有效等位 基因数 N_E	观测杂合 度 H_o	期望杂合 度 H_e	香农指数 I	近交系数 F_{is}	总体近交 系数 F_{it}	遗传分化 系数 F_{ST}
FLA2	9	3.9	2.283	0.592	0.535	0.974	-0.107	0.212	0.288
FLA7	9	4.7	2.635	0.605	0.602	1.118	-0.005	0.206	0.209
FLA20	12	4.3	2.741	0.591	0.567	1.060	-0.042	0.296	0.325
FLA23	9	5.0	2.492	0.626	0.567	1.092	-0.103	0.231	0.303
FLA27	6	3.4	1.980	0.436	0.435	0.757	-0.002	0.372	0.373
FLA30	5	2.1	1.653	0.286	0.279	0.457	-0.024	0.302	0.318
FLA32	10	4.3	2.157	0.521	0.495	0.904	-0.053	0.144	0.187
TER3	5	2.7	1.541	0.306	0.315	0.546	0.028	0.298	0.277
TER8	7	2.7	1.777	0.320	0.366	0.624	0.126	0.481	0.406
TER18	12	5.3	2.428	0.643	0.567	1.108	-0.135	0.100	0.208
TER21	8	3.3	2.083	0.430	0.448	0.786	0.040	0.407	0.383
平均 Mean	8.364	3.8	2.161	0.487	0.471	0.857	-0.025	0.277	0.298

注: N_T . 总的等位基因数; N_A . 平均等位基因数; N_E . 有效等位基因数; H_o . 观测杂合度; H_e . 期望杂合度; I . 香农指数; F_{is} . 近交系数; F_{it} . 总体近交系数; F_{ST} . 遗传分化系数。

Note: N_T means total number of alleles; N_A means number of different alleles; N_E means number of effective alleles; H_o means observed heterozygosity; H_e means expected heterozygosity; I means Shannon's information index; F_{is} means inbreeding coefficient; F_{it} means genetic differences among entire population; F_{ST} means genetic differences among subpopulation.

各种群遗传多样性指数计算结果见表 3。在物种水平上, 小瓣金花茶平均等位基因数 (N_A)、有效等位基因数 (N_E)、观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e) 分别是 3.9、2.328、0.520、0.501, 高于薄叶金花茶和小花金花茶。在种群水平上, 7 个种群平均等位基因数 (N_A) 在 2.7 (NB1) ~ 5.1 (NB3) 之间, 平均值为 3.8, 有效等位基因数 (N_E) 在 1.788 (NB1) ~ 2.466 (PT1) 之间, 平均值为 2.161。观测杂合度 (H_o) 在 0.409 (NB1) ~ 0.543 (NB3) 之间, 平均值为 0.487。期望杂合度 (H_e) 在 0.379 ~ 0.543 之间, 平均值为 0.471, 最高在种群 NB3, 最低在种群 NB1 (表 3)。

表 3 三种金花茶 7 个种群遗传多样性指数
Table 3 Genetic diversity of 7 populations

物种 Species	种群 Population	平均 等位 基因 数 N_A	有效等 位基因 数 N_E	观测 杂合 度 H_o	期望 杂合 度 H_e	固定系 数 F	多态位 点百分 数 $PPB(\%)$
------------	------------------	---------------------------	-----------------------	---------------------	---------------------	--------------	------------------------------

薄叶金花茶	BH1	3.1	1.914	0.441	0.411	-0.066	81.82%
<i>C. chrysanthoides</i>	BH2	4.2	2.064	0.452	0.451	0.013	90.91%
	平均 Mean	3.7	1.989	0.446	0.431	-0.024	
小花金花茶	NB1	2.7	1.788	0.409	0.379	-0.114	81.82%
<i>C. micrantha</i>	NB2	3.5	2.349	0.523	0.508	-0.041	100.00%
	NB3	5.1	2.356	0.543	0.543	0.027	100.00%
	平均 Mean	3.8	2.165	0.492	0.476	-0.038	
小瓣金花茶	PT1	4.3	2.466	0.508	0.540	0.063	100.00%
<i>C. parvipetala</i>	PT2	3.5	2.190	0.533	0.463	-0.139	81.82%
	平均 Mean	3.9	2.328	0.520	0.501	-0.028	
平均 Mean		3.8	2.161	0.487	0.471	-0.037	90.91%

注： N_A . 平均等位基因数； N_E . 有效等位基因数； H_o . 观测杂合度； H_e . 期望杂合度； F . 固定系数； PPB . 多态位点百分数。

Note: N_A means number of alleles; N_E means number of effective alleles; H_o means observed heterozygosity; H_e means expected heterozygosity; F means fixation index; PPB means the percentage of polymorphic loci.

3.2 遗传结构

分子变异方差分析（AMOVA）结果显示，三种金花茶种间变异占 9.66%，种内种群间变异占 24.62%，种群内变异占 65.72%（表 4）。在种内，它们的分子变异大部分都存在于种群内部，薄叶金花茶种群间变异占 24.41%，种群内变异占 75.59%；小花金花茶种群间变异占 18.20%，种群内变异占 81.80%；小瓣金花茶种群间变异占 35.39%，种群内变异 64.61%。两两种群间的遗传分化系数 F_{ST} 和基因流 Nm 如表 5 所示， F_{ST} 在 0.143 7~0.453 3 之间，其中，1 组种群间 F_{ST} 值小于 0.15；6 组种群间 F_{ST} 值在 0.15~0.25 之间，14 组种群间 F_{ST} 值大于 0.25，说明种群间分化大。 Nm 在 0.301 5~1.488 9 之间，仅有 3 组种群间基因流大于 1，种群间基因流较低。薄叶金花茶和小花金花茶种间分化系数 F_{ST} 为 0.173 1，薄叶金花茶和小瓣金花茶种间分化系数 F_{ST} 为 0.258 3，小花金花茶和小瓣金花茶分化系数 F_{ST} 为 0.206 8，薄叶金花茶与小花金花茶分化较小，小瓣金花茶与其他两种金花茶分化较大。

表 4 分子变异方差分析（AMOVA）结果

Table 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) for three <i>Camellia</i> species			
分组 Grouping	变异来源 Source of variation	变异组成百分比 Percentage of variation (%)	遗传分 化系数 F_{ST}
所有个体 All individuals	种间 Among species	9.66	0.34**
	种内种群间 Among populations within species	24.62	
	种群内 Within populations	65.72	
薄叶金花茶 <i>C. chrysanthoides</i>	种群间 Among populations	24.41	0.24**
	种群内 Within populations	75.59	
小花金花茶 <i>C. micrantha</i>	种群间 Among populations	18.20	0.18**
	种群内 Within populations	81.80	
小瓣金花茶 <i>C. parvipetala</i>	种群间 Among populations	35.39	0.35**
	种群内 Within populations	64.61	

注: **表示 $P < 0.01$ 。
Note: ** Means $P < 0.01$.

表 5 种群间遗传分化系数 F_{ST} (对角线下) 和基因流 Nm (对角线上)
Table 5 Pairwise comparisons of F_{ST} (below the diagonal) and Nm (above the diagonal) for 7

Camellia populations							
	BH1	BH2	NB1	NB2	NB3	PT1	PT2
BH1	—	0.774 1	0.399 4	0.611 1	0.533 7	0.402 7	0.301 5
BH2	0.244 1**	—	0.887 8	1.260 0	0.761 2	0.562 6	0.333 9
NB1	0.385 0**	0.219 7**	—	1.489 9	0.728 4	0.580 2	0.381 5
NB2	0.290 3**	0.165 6**	0.143 7**	—	1.301 2	0.791 4	0.439 3
NB3	0.319 0**	0.247 2**	0.255 5**	0.161 2**	—	0.586 8	0.375 1
PT1	0.383 0**	0.307 7**	0.301 2**	0.240 1**	0.298 7**	—	0.461 4
PT2	0.453 3**	0.428 1**	0.395 9**	0.362 7**	0.399 9**	0.351 4**	—

注: **表示 $P < 0.01$ 。
Note: ** Means $P < 0.01$.

STRUCTURE和PCoA分析三种金花茶遗传结构的结果基本一致。STRUCTURE分析结果显示, 7个种群184个个体最佳遗传学分组 $K=2$ (图2), 此时薄叶金花茶的2个种群和小花金花茶的3个种群大部分个体分为一组, 小瓣金花茶2个种群的大部分个体分为一组(图3)。PCoA分析结果 (图4), 7个种群所有个体分为两组, 即薄叶金花茶的2个种群和小花金花茶的3个种群分为一组, 小瓣金花茶2个种群分为一组, 但是小瓣金花茶两个种群明显分开, 其中, 种群PT1更接近于小花金花茶的3个种群。Coord.1和Coord.2分别代表18.76%和12.59%的总变异。Mantel test结果表明 (图5), 7个种群间地理距离和遗传距离呈弱的正相关性但不显著 ($R^2=0.0847$, $P=0.23$)。

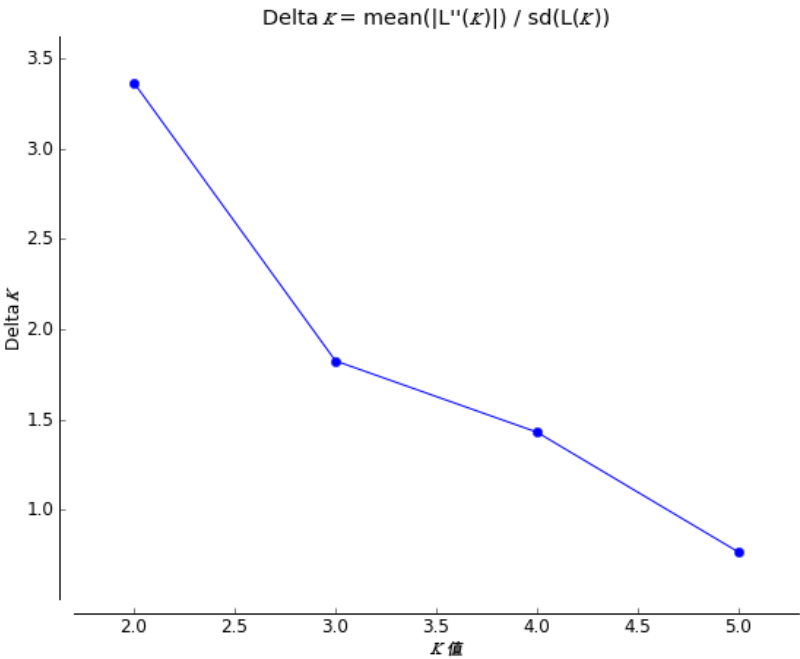


图 2 待定分组数 K 与估计值 ΔK 的关系
Fig.2 Relations between the number of determined group K and estimated value ΔK

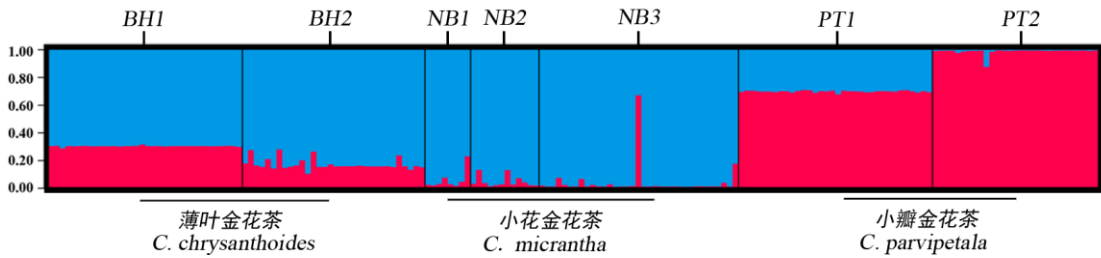


图 3 三种金花茶 STRUCTURE 分析结果 ($K=2$)
Fig.3 Two clusters were detected from STRUCTURE analysis.

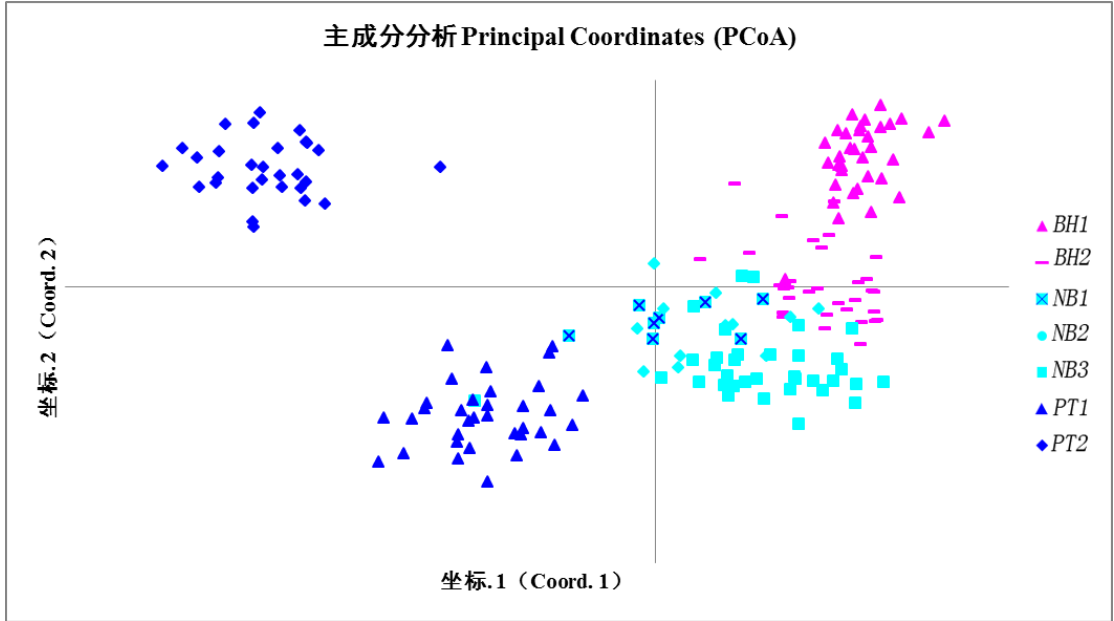


图 4 三种金花茶主成分分析 (PCoA) 结果
Fig.4 Principal coordinates analysis (PCoA) of SSR phenotype of three *Camellia* species

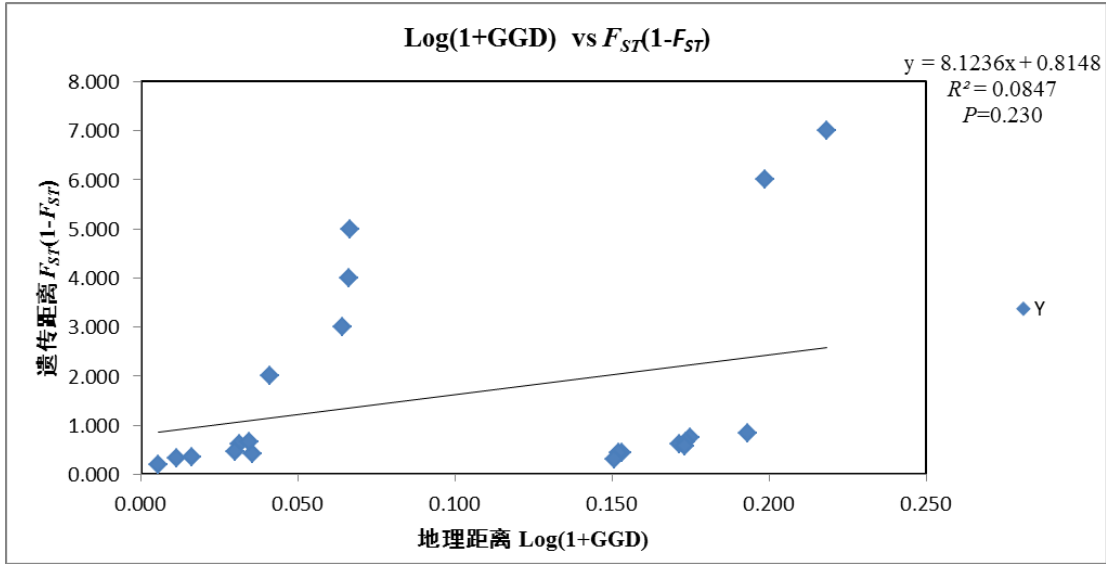


图 5 遗传距离和地理距离关系图
Fig.5 The correlation between genetic distance and geographic distance for 7 populations

4 讨论

4.1 遗传多样性

遗传多样性水平是决定种群适应进化潜力的重要因素(Frankham et al, 2002)。一般来说, 特有植物、珍稀濒危植物以及小而孤立的种群具有较低水平的遗传多样性(Spielman et al, 2004; Gao et al, 2017)。与同属植物相比, 三种金花茶的平均等位基因数 N_A 和期望杂合度 H_e 较低(薄叶金花茶, $N_A = 3.7$, $H_e = 0.431$; 小花金花茶, $N_A = 3.8$, $H_e = 0.476$; 小瓣金花茶, $N_A = 3.9$, $H_e = 0.501$), 低于同属植物淡黄金花茶(*C. flavida*, A (等位基因数) = 4.4, $H_e = 0.555$) (卢永彬, 2015), 大理茶(*C. taliensis*, A_R (等位基因丰富度) = 6.776, H_s (基因多样性) = 0.597) (Zhao et al, 2014), 还低于山茶(*C. japonica*, $A = 16.5$, $H_e = 0.84$) (Ueno et al, 2000)和茶(*C. sinensis*, $A = 4.3$, $H_e = 0.64$) (Yao et al, 2012)。因此, 三种金花茶均检测到相对较低水平的遗传多样性。影响物种遗传多样性的因素有多种, 例如: 生存环境, 地理分布和繁殖方式等(Nybom, 2004)。三种金花茶分布地非常狭窄, 并且人们对它们野生植株的移植和对土地的开发利用, 导致它们的野生种群大小下降, 并呈片断化分布, 所有种群的实际种群个体数都少于 100。分布地狭窄、种群小和片断化分布可能导致了三种金花茶种群遗传多样性水平低。

4.2 遗传结构

三种金花茶种群间存在高水平的遗传分化(表 5), 其中, 遗传分化系数 F_{ST} 仅在种群 NB1 和 NB2 之间小于 0.15, 存在中等程度的遗传分化, 其他种群之间存在较大 ($0.15 < F_{ST} < 0.25$) 或者很大的遗传分化 (14 组种群间 F_{ST} 值 > 0.25) (Wright, 1968)。种内种群间在薄叶金花茶 (0.244 1) 和小花金花茶 (0.143 7, 0.255 5 和 0.161 2) 呈较大的遗传分化, 小瓣金花茶种内种群间呈很大的遗传分化 (0.351 4), 大于大部分的种内种群间遗传分化值, 可能是因为小瓣金花茶种群 PT2 是被长期孤立的小种群而形成的。这种很大的遗传分化结果在同属近缘种植物淡黄金花茶中也检测到(卢永彬, 2015)。影响种群遗传分化的因素有多种, 其中基因流是影响种群遗传分化的重要因素之一(陈小勇, 2000)。7 个种群间基因流 Nm 较小(表 5), 仅有 3 组种群间的 Nm 大于 1, 根据 Wright(1931)理论, 只有当种群间 $Nm > 1$ 时, 基因流才能抵制遗传漂变的作用, 并防止遗传漂变导致的种群间遗传分化的发生。花粉的扩散和种子的传播是植物基因交流主要的两种形式。在同属植物的研究中, 淡黄金花茶(Wei et al, 2017; 彭国清和唐绍清, 2017)、油茶(邓园艺等, 2010)和大理茶(Liu et al, 2012)的种子或花粉传播能力有限, 导致了种群间具有较少的基因流, 并产生遗传分化。三种金花茶种群呈片断化分布, 限制了花粉和种子在种群间的扩散, 导致种群间存在较低水平的基因流, 它们的野生种群小且孤立, 受遗传漂变的影响较大。种群片断化分布、有限的传播能力、种群小和遗传漂变的影响, 可能导致了三种金花茶高水平种群间遗传分化。

STRUCTURE 和 PCoA 分析结果类似, 取样种群最佳遗传学分组数为 2, 即薄叶金花茶和小花金花茶大部分个体分为一组, 小瓣金花茶大部分个体分为一组, 与这三种金花茶地理分布区域一致, 说明薄叶金花茶与小花金花茶之间分化较小, 小瓣金花茶与其他两种金花茶分化较大。表明薄叶金花茶的 2 个取样种群和小花金花茶的 3 个代表种群很可能是同一种植物。

4.3 保护生物学意义

物种遗传多样性水平与其生存能力和适应能力密切相关(Hamrick & Godt, 1996)。本研究结果表明, 三种金花茶具有较低水平的遗传多样性和高水平的种群间遗传分化。野外调查发现, 取样种群的生境都已遭到不同程度的破坏, 如种群 PT2 分布地已被开发用来种植八角树; 种群 BH1 分布地已被开发用来种植桉树; 种群 BH2 分布地计划要修建公路, 如果计划实施, 公路将横穿 BH2 种群分布地, 导致大部分植株被挖掉。因此, 现存的所有种群应根据实际情况尽快采取就地保护或迁地保护措施, 实施迁地保护措施时, 每个种群都应选取代表性个体迁入种质资源库保护其种质资源。

参考文献:

- CHANG HT, 1979. Chrysanthia, a section of golden camellias from Cathaysian flora[J]. Acta Sci Nat Univ Sunyatseni, 18(3): 69-74. [张宏达, 1979. 华夏植物区系的金花茶组[J], 中山大学学报(自然科学版), 18(3): 69-74.]
- CHANG HT, REN SX, 1998. Theaceae. In: *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*[M]. Beijing: Science Press: 101-112. [张宏达, 任善湘, 1998. 中国植物志: 第四十九卷第三分册[M]. 北京: 科学出版社: 101-112.]
- CHEN XY, 2000. Effects of habitat fragmentation on genetic structure of plant populations and implications for the biodiversity conservation[J]. Acta Ecol Sin, 20(5): 884-892. [陈小勇, 2000. 生境片断化对植物种群遗传结构的影响及植物遗传多样性保护[J], 生态学报, 20(5): 884-892.]
- CIRES E, SAMAIN MS, GOETGHEBEUR P, et al, 2011. Genetic structure in peripheral Western European populations of the endangered species *Cochlearia pyrenaica* (Brassicaceae)[J]. Plant Syst Evol, 297(1-2): 75-85.
- DENG YY, YU XL, 2010. The role of native bees on the reproductive success of *Camellia oleifera* in Hunan Province, Central South China[J]. Acta Ecol Sin, 30(16): 4427-4436. [邓园艺, 喻勋林, 罗毅波, 2010. 传粉昆虫对我国中南地区油茶结实和结籽的作用[J], 生态学报, 30(16): 4427-4436.]
- DOYLE JJ, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochem Bull, 19(1): 11-15.
- EARL DA, VONHOLDT BM, 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method[J]. Conserv Genet Resour, 4(2): 359-361.
- EXCOFFIER L, LAVAL G, SCHNEIDER S, 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis[J]. Evol Bioinform Online, 1: 47-50.
- EXCOFFIER L, SMOUSE PE, QUATTRO JM, 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data[J]. Genetics, 131(2): 479-491.
- FRANKHAM R, BALLOU JD, BRISCOE DA, 2002. Introduction to Conservation Genetics[M]. Cambridge: Cambridge University Press: 182-183
- GAO QB, LI Yan, GENGJI ZM et al, 2017. Population genetic differentiation and taxonomy of three closely related species of *Saxifraga* (Saxifragaceae) from southern tibet and the hengduan mountains[J]. Front Plant Sci, 8: 1325.
- GYORGY Z, VOUILLAMOZ JF, LAD NYI M et al, 2014. Genetic survey of *Rhodiola rosea* L. populations from the Swiss Alps based on SSR markers[J]. Biochem Syst Ecol, 54(54): 137-143.
- HAMRICK JL, GODT MW, 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species[J]. Philos T R Soc B, 351(1345): 1291-1298.
- HE YL, HE Y, GONG LL, et al, 2017. Population genetic structure and interspecific differentiation between *Acer davidii* Franchi. and *A. morrisonense* Hayata (Aceraceae) based on SSR markers[J]. Biochem Syst Ecol, 71: 42-49.
- LI XL, LI SC, CHU HJ et al, 2013. Genetic diversity and population structure of the endangered alpine quillwort *Isoetes hypsophila* (Isoetaceae) revealed by SSR analysis[J]. Biochem Syst Ecol, 47(4): 11-20.
- LIANG SY. Comparison of karyotypes of Sect. Chrysanthia Chang [J]. Guangxi For Sci, 1995, 24(3): 142-144. [梁盛业. 金花茶组植物核型比较 [J]. 广西林业科学, 1995, 24(3): 142-144.]
- LIUFU YQ, PENG GQ, LU YB et al, 2014. Development and characterization of 38 microsatellite markers for *Camellia flavida* based on transcriptome sequencing[J]. Conserv Genet Resour, 6(4): 1007-1010.
- LIU Y, YANG S, JI P, et al, 2012. Phylogeography of *Camellia taliensis* (Theaceae) inferred from chloroplast and

- nuclear DNA: insights into evolutionary history and conservation[J]. BMC Evol Biol, 12(1): 92.
- LU YB, 2015. The population genetic structure of *camellia flavida* chang [D]. Guilin: Guangxi Normal University: 22-23. [卢永彬, 2015. 淡黄金花茶种群遗传结构研究[D]. 桂林: 广西师范大学: 22-23]
- LU YB, LIUFU YQ, PENG GQ et al, 2014. Development of 21 microsatellite primers for *Camellia pingguoensis* (Theaceae) using 454 sequencing[J]. Conserv Genet Resour, 6(3): 791-793.
- MA Q, DU YJ, CHEN N et al, 2015. Phylogeography of *Davidia involucrata* (Davidiaceae) Inferred from cpDNA Haplotypes and nSSR Data[J]. Syst Bot, 40(3): 796-810.
- MENG FJ, LIU L, PENG M et al, 2015. Genetic diversity and population structure analysis in wild strawberry (*Fragaria nubicola* L.) from Motuo in Tibet Plateau based on simple sequence repeats (SSRs)[J]. Biochem Syst Ecol, 63(2): 113-118.
- MING TL, BARTHOLOMEW B, 2007. Theaceae. In: *Flora of China*[M]. Beijing: Science Press: 368-372.
- NYBOM H, 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants[J]. Mol Ecol, 13(5): 1143-1155.
- PEAKALL R, SMOUSE PE, 2012. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update[J]. Bioinformatics, 28(28): 2537-2539.
- PENG GQ, TANG SQ, 2017. Fine-scale spatial genetic structure and gene flow of *Camellia flavida*, a shade-tolerant shrub in karst[J]. Acta Ecol Sin, 37(21): 7313-7323. [彭国清, 唐绍清, 2017. 喀斯特耐阴灌木淡黄金花茶的精细空间遗传结构与基因流[J], 生态学报, 37(21): 7313-7323.]
- PRITCHARD JK, STEPHENS M, DONNELLY P, 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. Genetics, 155(2): 945-959.
- QIN H, YANG Y, DONG S, et al, 2017. Threatened species list of china's higher plants[J]. Biodivers Sci, 25(7): 696-744. [覃海宁, 杨永, 董仕勇等, 2017. 中国高等植物受威胁物种名录[J], 生物多样性, 25(7): 696-744.]
- RICE WR, 1989. Analyzing tables of statistical tests[J]. Evolution, 43(1): 223-225.
- ROUSSET F, 2008. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux[J]. Mol Ecol Resour, 8(1): 103-106.
- RYALL CL, 1998. Principles of conservation biology[J]. Environmentalist, 19(2): 171.
- SEGARRA-MORAGUES JG, PALOP-ESTEBAN M, GONZ LEZ-CANDELAS F et al, 2005. On the verge of extinction: genetics of the critically endangered Iberian plant species, *Borderea chouardii* (Dioscoreaceae) and implications for conservation management[J]. Mol Ecol, 14(4): 969-982.
- SPIELMAN D, BROOK BW, FRANKHAM R, 2004. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 101(42): 15261-15264.
- SU Z, RICHARDSON BA, ZHUO L et al, 2017. Genetic diversity and structure of an endangered desert shrub and the implications for conservation[J]. Aob Plants, 9(3): plx016.
- UENO S, TOMARU N, YOSHIMARU H et al, 2000. Genetic structure of *Camellia japonica* L. in an old-growth evergreen forest, Tsushima, Japan[J]. Mol Ecol, 9(6): 647-656.
- WEI SJ, LU YB, YE QQ et al, 2017. Population genetic structure and phylogeography of *Camellia flavida* (Theaceae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences[J]. Front Plant Sci, 8: 718.
- WRIGHT S, 1968. Evolution and the genetics of populations[M]. Chicago: University of Chicago Press: 1191-1192.
- WRIGHT S, 1931. Evolution in Mendelian populations[J]. Genetics, 16(2): 97-159.
- YANG HS, LI XP, LIU DJ et al, 2016. Genetic diversity and population structure of the endangered medicinal plant *Phellodendron amurense* in China revealed by SSR markers[J]. Biochem Syst Ecol, 66: 286-292.
- YAO MZ, MA CL, QIAO TT et al, 2012. Diversity distribution and population structure of tea germplasms in

- China revealed by EST-SSR markers[J]. Tree Genet Genomes, 8(1): 205-220.
- YE QQ, XUE YG, 2013. Classification of *Camellia chrysanthoides*, *C. micrantha*, *C. parvipetala* and *C. xiashiensis*[M]// LIANG SC, MA JM. Guangxi Dongzhiwu Shengtaixue Yanjiu. Beijing: China Forestry Press: 23-27. [叶泉清, 薛跃规, 2013. 薄叶金花茶、小花金花茶、小瓣金花茶、夏石金花茶分类的探讨[M]// 梁士楚, 马姜明. 广西动植物生态学研究. 北京: 中国林业出版社: 23-27.]
- ZHAO DW, YANG JB, YANG SX et al, 2014. Genetic diversity and domestication origin of tea plant *Camellia taliensis* (Theaceae) as revealed by microsatellite markers[J]. BMC Plant Biol, 14(1): 14.
- ZHAO Y, TANG M, BI YF, 2017. Nuclear genetic diversity and population structure of a vulnerable and endemic orchid (*Cymbidium tortisepalum*) in Northwestern Yunnan, China[J]. Sci Hortic-amsterdam, 219: 22-30.